

LES ESSAIS EN CHAMP DE VITROPLANTS D'HEVEA

à IDEFOR-DPL. CÔTE D'IVOIRE

(M.P. CARRON & B.G. DEA - décembre 1994)

I. LE POINT SUR LES ESSAIS EN COURS

BM OM2

1. Caractéristiques de l'essai

Premier essai en champ permettant une comparaison rigoureuse du matériel issu de microbouturage avec le matériel greffé. Réalisé avec 18 clones de seedling constituant autant de répétitions pour la comparaison des deux motifs microboutures/greffés. A noter que le matériel végétal est juvénile dans les deux cas. L'essai est subdivisé en deux sous-expériences OM2a plantée en juin 1989 sur 0,94 ha et OM2b plantée en septembre 1989 sur 0,75 ha. Chaque parcelle élémentaire comporte 24 arbres; ce qui fait 48 arbres par bloc et 480 arbres par traitement chez OM2a ou 384 arbres par traitement chez OM2b.

Les données quantitatives analysées sont les suivantes :

- Hauteur : planting, 1, 2 ans
- circonférence au collet : planting, 1, 2, 3, 4, 5 ans
- circonférence à 1 m : 1, 2, 3, 4, 5 ans
- circonférence à 1,70m : 4, 5, 6.....ans
- saignée précoce à 4 ans (sur OM2b seulement)

A cela s'ajoute des données qualitatives sur l'architecture et la résistance au vent.

2. Premiers résultats

L'expérience est rentrée dans sa sixième année ; la circonférence moyenne des troncs à 1 m indique que l'ouverture pourra se faire début 95. On peut donc considérer que la période immature est achevée et faire l'analyse des données qui la concerne.

Une première analyse fait ressortir les résultats suivants :

- Tout d'abord les arbres produits par microbouturage présentent tous une bonne architecture aérienne et racinaire, globalement conforme à celle observée chez les greffés ou les seedlings.

- La croissance au collet est supérieure chez les porte-greffes (63,9 cm), intermédiaire chez les microboutures (59,7 cm) et inférieure à la base des greffons (54,1 cm) : le rapport greffon/porte-greffe étant de l'ordre de 0,85 défavorable au greffon = pied d'éléphant. Ceci est systématique chez chacun des génotypes étudiés, malgré leur caractère juvénile. Il en résulte un degré de conicité supérieur chez les microboutures (1,77°) à celui des greffés (1,31°).

En fait ces chiffres sont en retrait par rapport à la réalité dans la mesure où dans le jeune âge la conicité du tronc est visible surtout dans les 50 premiers centimètres : le fait de calculer l'angle entre le collet et le tronc à 1 m atténue donc la valeur réelle de la conicité. En outre l'observation de vieux seedlings en exploitation montre que l'on a une poursuite de la croissance en diamètre et de la conicité du tronc spectaculairement supérieure à ce que l'on observe généralement chez les greffés. Ceci signifie que l'intérêt de la surviguer du vitroplant est peut-être à attendre tout autant dans la croissance après ouverture que dans la période immature.

- Quant à la résistance au vent, on note après le coup de vent du 23/04/94 : chez BM OM2a, 3 plants sur 400 ont eu leur tronc penché ou cassé dans chacun des deux motifs greffés ou microbouturés et chez BM OM2b, on enregistre chez les greffés 4 troncs cassés sur 248 plants contre 2 troncs penchés, 1 cassé et 1 déraciné chez les microboutures. La sensibilité au vent est donc strictement identique dans les deux modes de multiplication.

- La vigueur exprimée par la circonférence à 1 m du sol est similaire chez les deux motifs greffés et microbouturés, respectivement de 44,96 et 45,34 cm (BM OM2a, 5 ans ; prête pour mise en saignée). Une analyse plus fine montre l'existence d'une corrélation entre la hauteur des vitroplants au planting et leur développement à 5 ans (circonférence à 1m) (**figure 1**) ; la pente de régression est faible en raison du faible étalement des points sur l'axe des abscisses (hauteur au planting). La comparaison des croissance moyennes des 5 arbres les plus petits au planting (7,7 cm en moyenne) avec celles des 5 arbres les plus grands au planting (19,9 cm en moyenne ; 60% de l'effectif total) fait mieux apparaître cette relation (**figure 2**). On notera enfin que cette dimension de plant au planting correspond chez l'hévéa à un semis de moins d'un mois mis en comparaison avec les stumps greffés de 8 mois. Ce décalage entre les motifs, non maîtrisé au planting pour des raisons techniques, joue probablement en défaveur vis à vis du traitement microbouture et donne d'autant plus de poids à l'équivalence des croissances enregistrées à 5 ans. Dit autrement, si le planting avait été fait avec des vitroplants mesurant environ 50 cm après 6-7 mois de pépinière, on aurait probablement un motif significativement plus homogène et supérieur au motif greffé ; c'est ce que les prochains essais en champ devront s'attacher à vérifier.

- Aucune différence n'apparaît entre les microboutures de OM2a (provenant de cultures primaires) et celles de OM2b (provenant de subcultures des souches primaires),

- La corrélation est très significative entre la circonférence des plants à 1 an et à 5 ans donnant, pour chaque génotype, une valeur de prédictibilité à la croissance à 1 an en champ (**figure 3**).

- La mise en saignée précoce de la sous-expérience BM OM2b à 3 ans et 9 mois (3 mois de saignée avec une stimulation et un contrôle arbre par arbre) donne un classement des clones sensiblement identique entre les deux motifs.

N° de Génotypes	Classement par ordre croissant de production cumulée croissante													
greffés	47	10	82	60	72	83	28B	15B	28A	58	15A	17	21A	21B
microboutures	47	60	10	82	72	83	58	28B	15A	28A	15B	21A	21B	17

- On peut regretter aujourd'hui que le dispositif en champ ne permette pas une analyse rigoureuse du comportement de chaque clone par rapport au mode de multiplication (l'absence de répétition rend impossible la distinction entre l'effet génotype et l'effet environnement). Néanmoins, avec les 18 génotypes, on enregistre une très forte corrélation entre les deux modes de multiplication, ce qui est de bonne augure quant au comportement sur leurs propres racines des clones de greffes (figure 4).

BM OVI (anciennement BM OM12)

1. Caractéristiques de l'essai

Il s'agit du premier essai comparatif entre plants issus d'embryogenèse somatique (ES) et greffés (G) de trois clones PR 107, PB 260 et RRIM 600. En fait le schéma de l'essai est différent pour chacun des clones :

- pour PR 107, il y a 6 répétitions de 11 arbres, par motif
- pour PB 260, il y a 18 arbres ES et 23 arbres G disposés en randomisation totale.
- pour RRIM 600, il y a 2 arbres ES et 23 arbres G disposés en randomisation totale.

L'expérience a été mise en place en juin 1992

2. Premiers résultats

Trente mois après le planting, on peut déjà tirer un certain nombre de conclusions provisoires:

- La reprise de croissance après planting a été globalement très bonne, surtout pour les somaplants (1% de pertes seulement contre 19% chez les greffés).

- L'architecture aérienne et racinaire des somaplants est très bonne, peut-être même meilleure que celle des greffés avec un système racinaire très pivotant et un tronc beaucoup plus droit-lisse que celui des greffés. Il faudra confirmer l'incidence de ces paramètres à long terme.

- chez le clone PR 107, il n'y a pas de différence significative de vigueur à 30 mois entre les somaplants et les greffés. On note cependant que les somaplants étaient, en moyenne, très petits au moment du planting (13 cm) et que l'on enregistre une corrélation positive significative entre la taille au planting et la vigueur à 30 mois (figure 5).

- chez le clone PB 260, les somaplants manifestent une vigueur significativement supérieure d'environ 20% à celle des greffés.

- Chez le clone RRIM 600, bien que le faible effectif de somaplants ne permette pas une analyse statistique, la vigueur des somaplants est également supérieure d'environ 20% à celle des greffés.

Ces résultats intermédiaires sont donc globalement très encourageants.

BM OV3 (anciennement BM OM14)
--

Cette expérience, mise en place en juin 93, comprend 3 traitements (3 x 30 = 90 plants par traitement) :

- microboutures IRCA 18
- greffés classiques IRCA 18
- greffés classiques GT1

Dix-huit mois après le planting, les premières observations montrent que :

- dans tous les cas, le système racinaire développe un système d'ancrage avec 1 ou 2 pivots,
- les troncs des microboutures sont au moins aussi droits/lisses sinon plus que ceux des greffés ; la quantité de bourgeons éliminés à 7-8 mois sur le tronc en dessous de 1,5 m est respectivement de 457 pour IRCA 18 microb., 331 pour IRCA 18 greffés, et 144 pour GT1 greffés.
- la croissance des microboutures IRCA 18 (12 cm) est significativement supérieure d'environ 15% à celle des greffés IRCA 18 (10,6 cm) ; cet avantage peut ici être lié à la hauteur moyenne des microboutures au planting (55 cm). Il faut voir si cet avantage se maintient dans le temps, comme semblent le montrer les résultats de BM OM2 et BM OV1.
- il y a une corrélation hautement significative entre la hauteur des microboutures au planting et le diamètre du tronc à 1 m à 18 mois (**figure 6**). Le fait que l'effectif des microboutures soit assez bien distribué pour des hauteurs au planting allant de 10 cm à 110 cm renforce l'intérêt de cette corrélation

BM OM11 et BM OV2 (anciennement BM OM13)

BM OM11 est un champ de clones de microboutures comprenant les clones IRCA suivants de la série 1200 : 1201, 1203, 1216, 1237, 1245, 1261, 1262, 1266, 1277.

BM OV2 est une expérience mise en place en juillet 92 pour mesurer l'interaction porte-greffe/greffon. Elle comprend quatre traitements :

- PB 235/PG GT1_{ill.} = n°1
- PB 217/PG GT1_{ill.} = n°2
- PB 235/PG microbouture clone 73 = n°9
- PB 217/PG microbouture clone 73 = n°10

TRAITEMENTS		CIRCONFERENCE A 1 M	
		1 an	2 ans
1. PB 235/GT1 ill.	Moy. (cm) CV (%) n	6,7 24,8 49	15,8 ^a 15,7 50
9. PB 235/ μ b 73.	Moy. (cm) CV (%) n	6,1 23,7 17	14,6 ^a 19,4 18
2. PB 217/GT1 ill.	Moy. (cm) CV (%) n	6,5 26,6 41	13,5 ^a 24,1 48
10. PB 217/ μ b 73.	Moy. (cm) CV (%) n	6,27 25,6 25	12,3 ^a 17,6 27

^a = les moyennes des 4 motifs sont statistiquement équivalentes à 2 ans.

Trop tôt pour tirer des conclusions.

Ces deux expériences ont été jugées trop jeunes pour pouvoir en tirer des conclusions ; par contre des avenants au protocole ont été faits.

BM OV4

Nouvel essai mis en place en juin 94 sur le clone RRIM 600, avec 5 traitements initiaux (5 x 15 plants par traitement) :

- microboutures RRIM 600 (M)
- greffés classiques RRIM 600 (G)
- seedling RRIM 600_{ill.} (SR)
- greffés RRIM 600 sur PG microboutures RRIM 600 (PM)
- greffés microboutures sur PG classiques tout venant (GM)

Quatre mois après le planting, tous les traitements avaient bien démarré sauf (PM) pour lequel la majorité des plants sont morts : les PG microboutures étaient, semble-t-il, encore trop frêles pour supporter le rabattage après la greffe.

BM TV1

Nouvel essai mis en place en septembre 94 dans le but de faire, au cours des trois premières années de croissance en champ, des observations complètes, y compris destructives, sur le développement aérien et racinaire des plants. Quatre motifs (3 x 5 plants par motif) :

- microboutures PB 235
- microboutures RRIM 600
- microboutures PR 107
- microboutures IRCA 111

II. POURSUITE DES OBSERVATIONS SUR LES EXPERIENCES EN COURS

BM OM2A et B

- Ouvertures séparées des 2 motifs. M et G selon norme standard (50% des arbres mesurent + de 50 cm de circonférence à 1 m du sol). Ouvertures complémentaires tous les 6 mois.
- Contrôles de production pour enregistrer la production annuelle de chaque arbre, puis la moyenne par parcelle.
- L'évolution du nombre d'arbres saignés à partir de l'ouverture, pour chaque motif M et G.
- Mesure de la circonférence à 1, 70 m avant ouverture, puis tous les ans.
- Mesure de la circonférence au collet ou à la base du greffon, chaque année.
- Mesure de la circonférence à 1 m ; 50 cm.
- Mesure des circonférences à la date anniversaire
OM2 A--> Juin
OM2 B--> Sept.

BM OV1 et OV3

Mesures :

Suivi tous les 6 mois. Juin-Juillet et Décembre-Janvier.

1. Circonférence au collet ou base greffon.
2. Circonférence à 1 m et 0,50 m.
3. Ouverture selon norme classique, indépendante pour chaque motif vitroplant ou greffé.
Contrôle de production pour avoir la production annuelle par arbre.
4. Circonférence à 1,70 m à partir de l'année 4.

Analyse des résultats :

- Avec 1 et 2 . Mesurer l'angle de conicité de chaque arbre, puis calculer la moyenne/motif/clone.
 . Calculer la moyenne de production/motif/clone puis la production cumulée.
 . En tenant compte de la proportion d'arbre manquant, faire une extrapolation de production à l'hectare.
- Avec 4 et 2 . Comparer la vigueur relative des arbres en fonction du motif vitroplant et greffé. Comparer également l'accroissement de circonférence par rapport à la dernière mesure, avant mise en saignée.

BM OM11

Clones : 1201, 1203, 1216, 1237, 1245, 1261, 1262, 1266, 1277.

Récupérer dans les archives de l'amélioration le classement relatif de ces neufs clones en année 1, 2, 3, 4, 5 et valeurs de croissance et de production précoce.

- > Test saignée par pique à 2,5 ans (déc. 94).
- > Mise en saignée précoce de 3 ans jusqu'à 3,5 ans (arrêt et bilan de l'expérience).
- > Notation sur architecture.
- > Circonférence à 1m à 3 ans.

OV4 (anciennement OM15)

---> Réaliser le plan de masse de l'expérience.

Contrôles :

- | | | |
|-----------------|-----|--|
| Tous les 6 mois | 6.2 | <ul style="list-style-type: none">└- Hauteur (jusqu'à 2 ans)└- Diamètre au collet ou bas du greffon (toujours).└- Circonférence (à partir de 1 an -->) à 0,5m et 1 m.└- Circonférence à 1,70 m (à partir de 4 ans -->). |
| | 6.3 | <ul style="list-style-type: none">└- Hauteur des premiers branchements (ébourgeonnage).└- Fréquence d'ébourgeonnage, nbre de bourgeons éliminés/arbres. |

Ouverture motif par motif lorsque 50% de l'effectif est OK. Cf. BM OM2.

Contrôles tous les ans. Partie aérienne cf. BM OV4.

Observations sur le système racinaire :

Latérales :

- nombre de racines latérales.
- longueur d'exploitation du sol --- > moyenne
- profondeur d'émission
- azimut à l'émission
- diamètre à 30 cm

Pivot :

- profondeur d'exploitation
- nombre de pivots primaires
- nombre de pivots secondaires
- diamètre 50 cm et 1m

Définir 5 classes (1 à 5) pour architecture racinaire.
par exemple :

- n° 1 --> quelques racines latérales sur un seul côté, pas de pivot.
- n° 2 --> racines latérales bien réparties. Pas de pivot.
- n° 3 --> racines latérales bien réparties. Pivot desaxé au niveau du collet.
- n° 4 -->
- n° 5 seedling --> 1 pivot et racines latérales bien répartis.

III. PROJETS DE NOUVEAUX ESSAIS EN CHAMP

1995 BM OV5 : essai sur le clone PB 260 avec 4 motifs

- embryons somatiques
 - greffés classiques
 - greffés à partir d'embryons somatiques
 - seedlings PB 260_{ill}
- 120 plants par motif

BM TV2 : analyse du développement aérien et racinaire

- embryons somatiques de PB 260
 - embryons somatiques de PR 107
- 15 plants par motif

Figure 1 : Analyse de régression entre la hauteur au planting des microboutures et la circonférence à 1m des arbres à 5 ans, chez les deux sous-expériences BM OM2a ($C_5 = 43,77 + 0,109xH_0$) et BM OM2b ($C_5 = 39,19 + 0,128xH_0$).

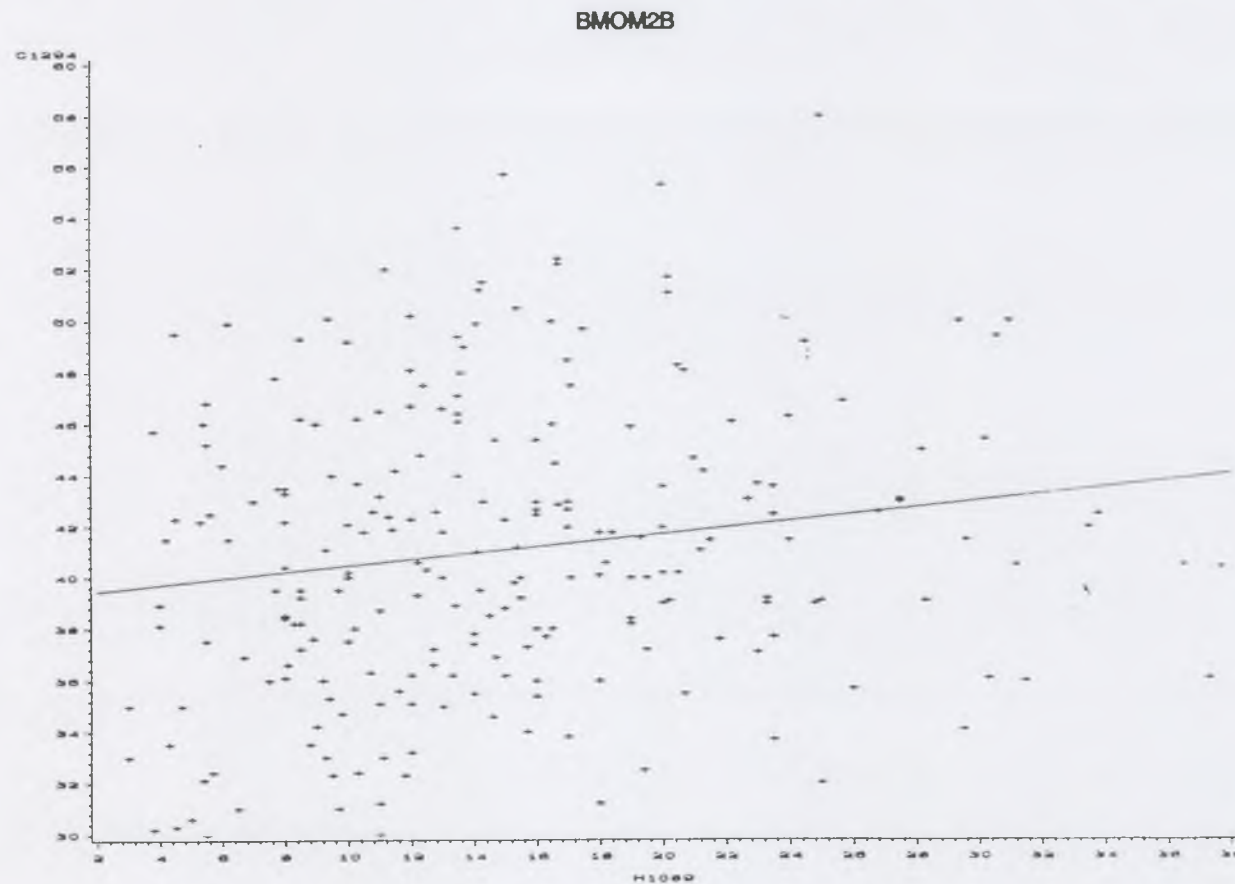
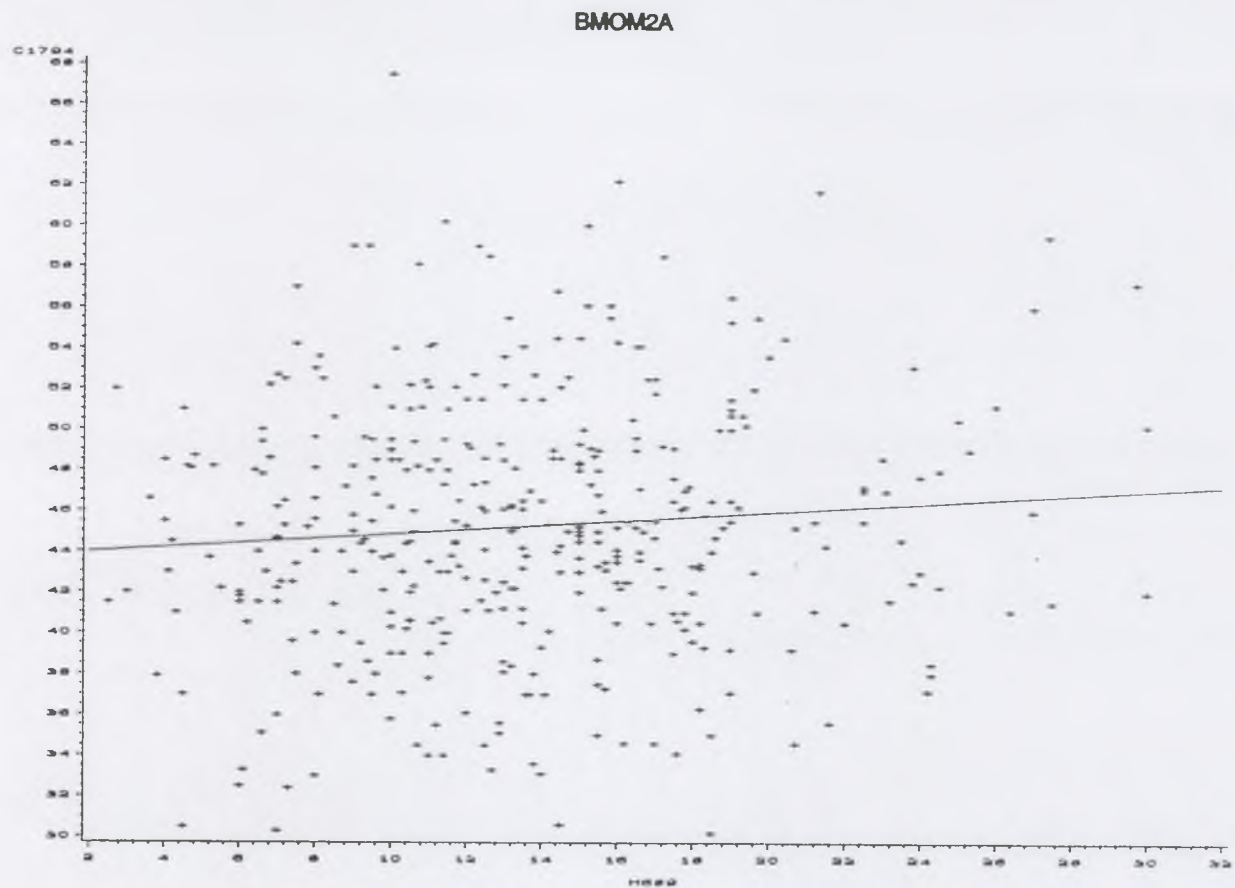


Figure 2 : Croissance à 5 ans chez les 14 génotypes de l'expérience BM OM2b pour les greffés, les 5 microboutures les plus petites au planting (7,7 cm) et les 5 microboutures les plus grandes au planting (19,9 cm).

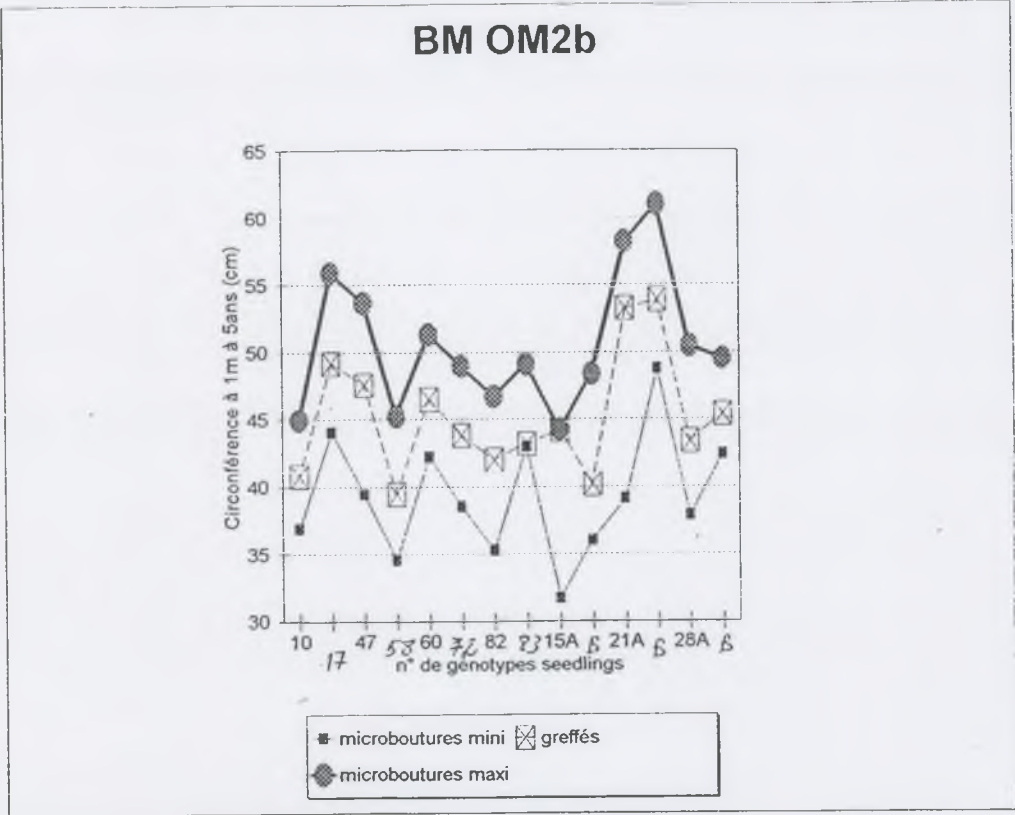


Figure 3 : Analyse de régression entre la hauteur à 1 an des microboutures et la circonférence à 1m des arbres à 5 ans, dans la sous-expérience BM OM2a ($Y = 1,4982 + 37,329 X$; $r = 0,29$).

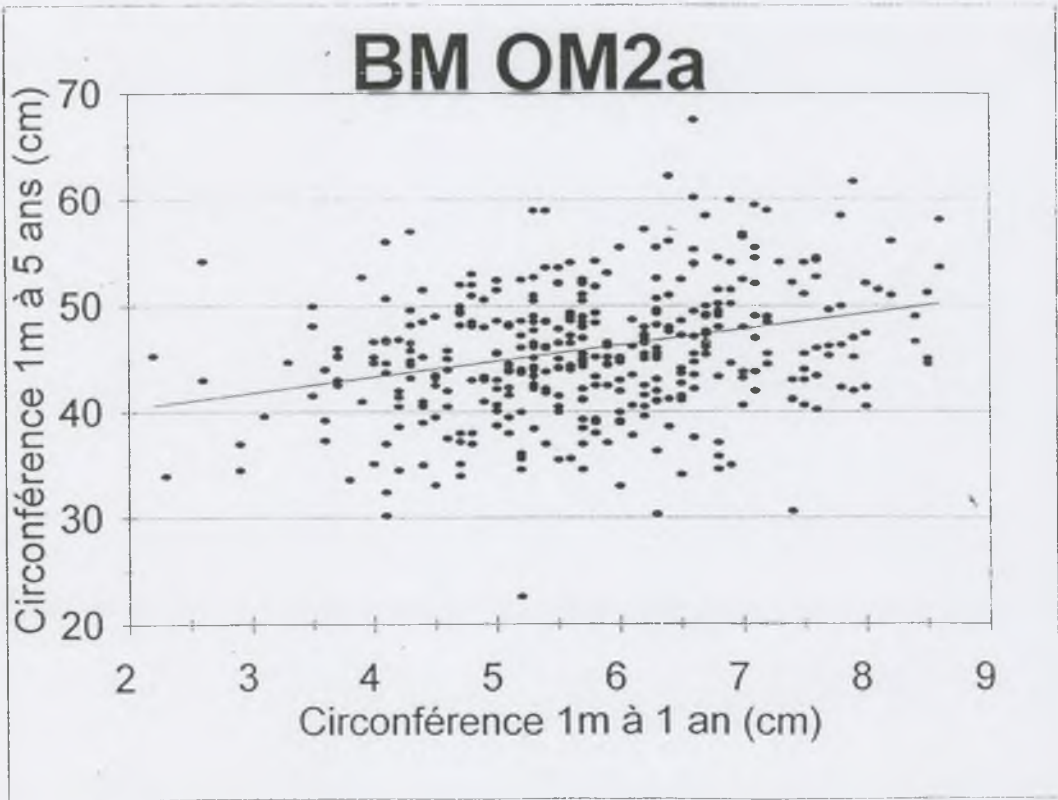


Figure 4 : Croissance moyenne à 1 an et à 5 ans chez les 18 génotypes de l'expérience BM OM2a, greffés ou microbouturés. A noter tout de même que l'absence de répétition ne permet pas de distinguer l'effet environnement de l'effet génotype.

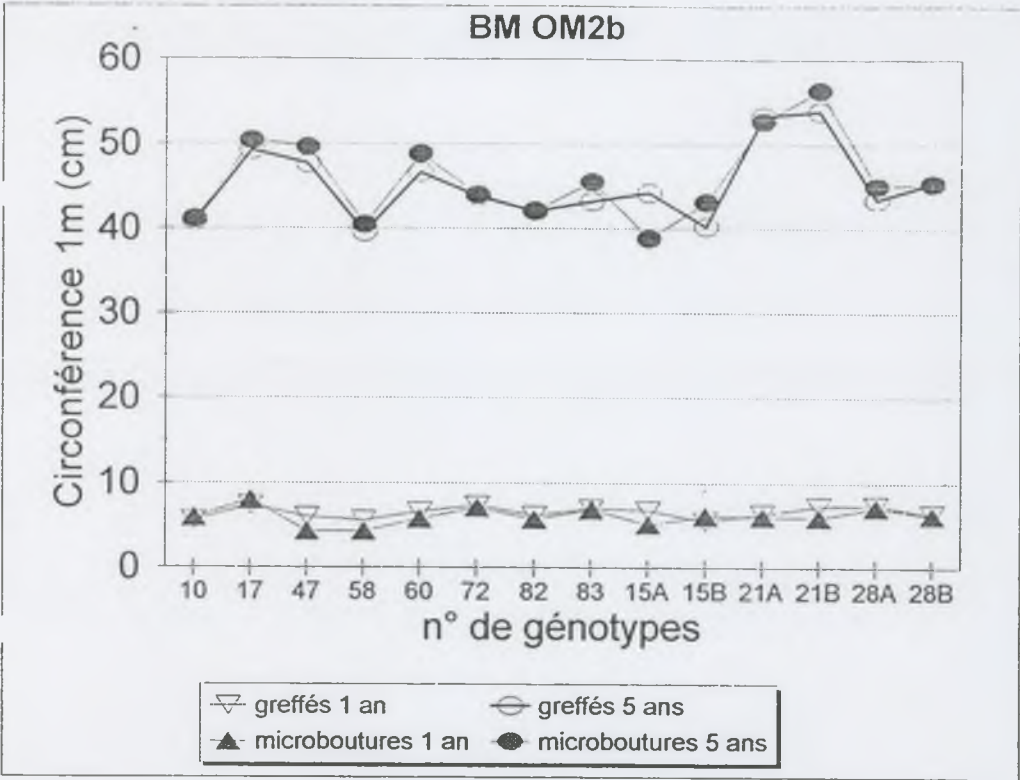


Figure 5 : Analyse de régression dans l'expérience BM OV1 entre la hauteur des somaplants au planting et la circonférence du tronc à 1m à 27 mois ($C_1 = 13,29 + 0,09xH_0$; $r = 0,297$)

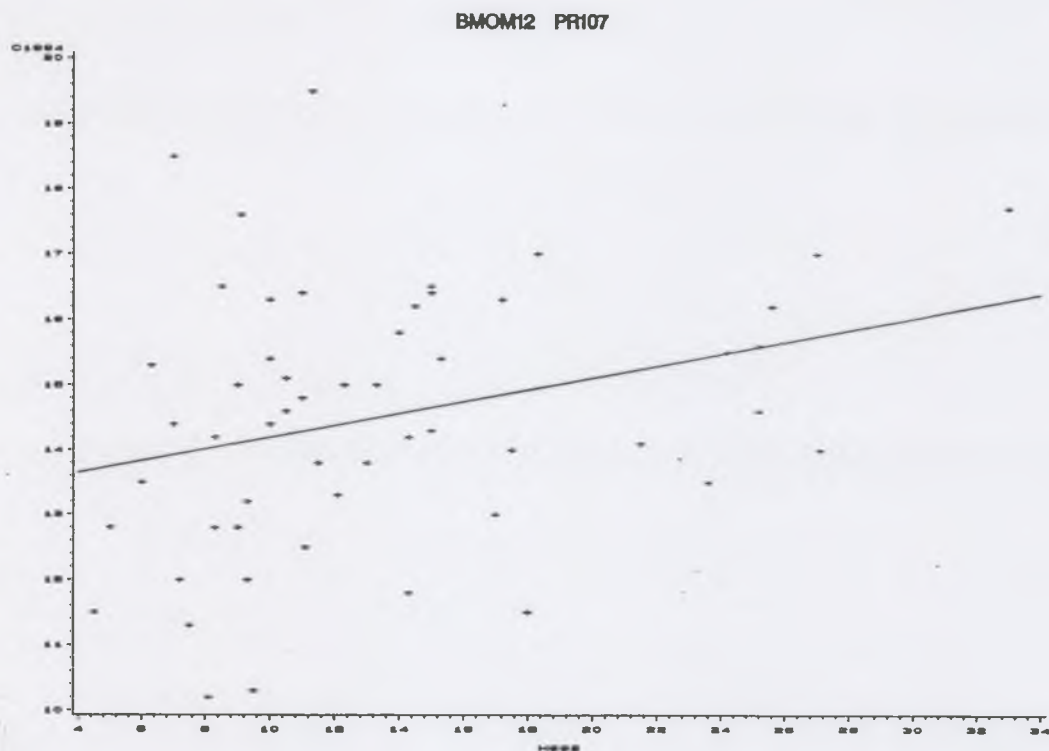
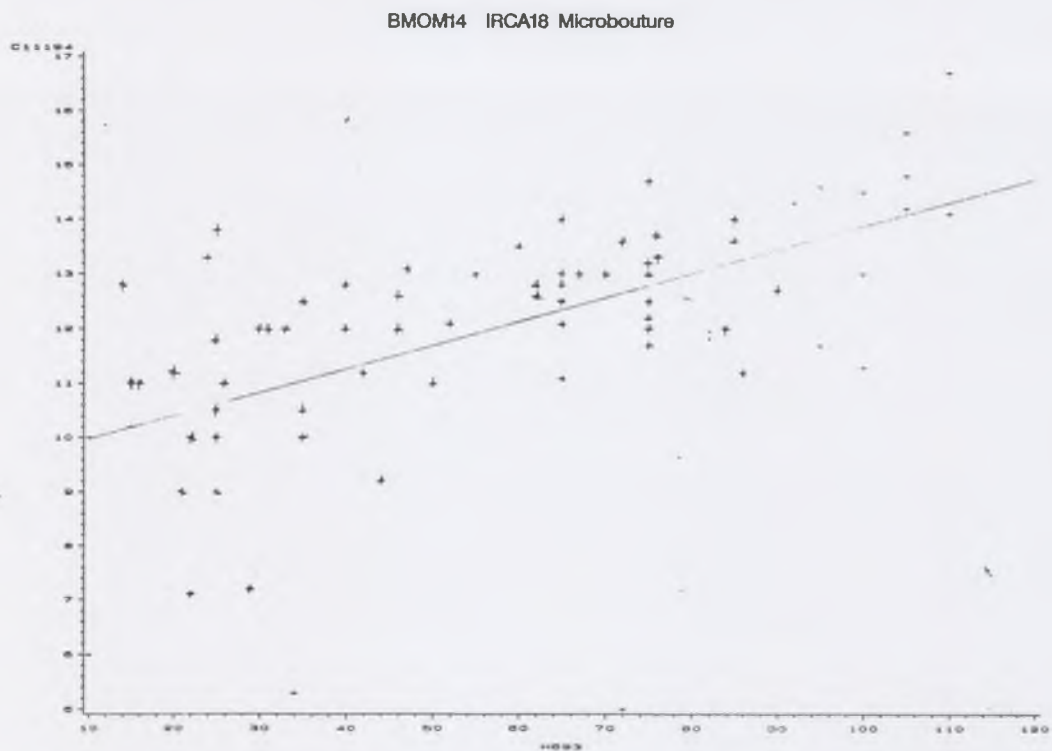


Figure 6 : Analyse de régression dans l'expérience BM OV3 entre la hauteur des microboutures IRCA 18 au planting et la circonférence du tronc à 1m à 17 mois ($C_1 = 9,54 + 0,043xH_0$; $r = 0,585$)



ANNEXE 1

Expérimentation sur le transport du matériel de greffe

Deux expériences (TG2 et TG3) ont été réalisées successivement dans le cadre de cette mission. Leur but est de mettre au point une nouvelle technique pour le transport *in vitro* de matériel à greffer, en conditions semi-stériles afin de :

- éviter les problèmes de quarantaine
- permettre une conservation de 1 à 2 semaines du matériel, en fonction des sites de prélèvement et de greffage.

Matériel végétal

rameau vert ou semi-aoûté comportant plusieurs noeuds sur une longueur de 14 cm.

TG2 : seedlings cultivés en serre CIRAD Montpellier

TG3 : PB 260 issus de jardin à bois IDEFOR-DPL/Bimbresso

expérimentation sur prétraitement et milieu de transport

TG2	T1 = Trempage Benlate 1g/l (30 min.)	--> tube vide hermétique
	T2 = rien	--> Sopalin + Benlate 1g/l
	T3 = rien	--> Sopalin + Desogerme (1/200°)
	T4 = Trempage Benlate	--> Sopalin + Desogerme
	T5 = Trempage Desogerme	--> Sopalin + Benlate
	T6 = idem T5 avec rameaux à méristème apical dormant	
	effectifs : 6 traitements - 10 tiges de 14 cm de long/traitement	

TG3	T1 = Trempage Benlate 5g/l (30 min.)	--> tube vide hermétique
	T2 = Trempage hortiseptyl 1 % (30 min.)	--> tube vide hermétique.
	T3 = Trempage Benlate 5g/l + hortiseptyl 1% (30 min.)	--> tube vide hermétique.

effectifs: 3 traitements - 20 échantillons par trait. ---> 60 échantillons de 14 cm de long/traitement

conditions de transport : tube plastique bouché hermétique

conservation : 7 à 14 jours, y compris le transport, après lesquels le maximum de greffons est prélevé et posé ; le taux de greffes réussies est relevé après 3 semaines.

résultats synthétiques

Traitements TG2 Pourcentage de greffes réussies sur le nombre total de greffes isolées	7 jours	14 jours	Moyenne	Nbre de greffes réussies/m de bois de greffes
T1	100%	80%	85% (21/24)	15
T2	25%	64%	47% (9/19)	6,4
T3	50%	64%	58% (14/24)	10
T4	0%	12%	5% (1/21)	0,8
T5	0%	100%	21% (3/14)	2
T6	36%	54%	44% (11/25)	7,8

T1 : trempage Benlate 1g/l (30 min.), conservation dans tube vide hermétique : 100% à 9 jours ; 80% à 14 jours (moyenne 85%), très nettement supérieur à tous les autres traitements avec conservation dans du sopalin imbibé.

Traitements TG3 Pourcentage de greffes réussies sur le nombre total de greffes isolées	10 jours	Nbre de greffes réussies/m de bois de greffes
T1	26% (16/62)	5,7
T2	4% (2/52)	0,7
T3	20% (10/51)	3,6

- Le traitement T2 (4% à 10 jours) montre clairement que l'hortiseptyl n'est pas favorable à cet objectif ; il a grandement favorisé le pourrissement des tiges..

- Entre T1 (26% à 10 jours) et T3 (20% à 10 jours) on constate que le pourrissement des tiges représente 1/3 à la moitié des pertes directes : **il faut sans doute éviter au maximum de mouiller les tiges ; le trempage doit donc être déconseillé - préférer le poudrage ou un trempage instantané suivi d'un ressuyage ou encore une désinfection complète type culture in vitro.**

- Le critère d'écoulement du latex ne semble pas très prédictif de l'état de conservation de la tige et du succès des greffes.

- Le matériel semi-aoûté apparaît nettement moins favorable que les tiges vertes : aucune greffe réussie sur 4 tiges (2 T1 et 2 T2).

En conclusion : La différence entre les deux manip vient essentiellement de l'origine du matériel végétal qui vient de serre/Montpellier pour TG2 et de jardin à bois IDEFOR pour TG3. La différence peut tenir à l'état hydrique et au niveau initial de contamination bactérienne ou encore au fait que chez TG2 on a du matériel seedling alors que chez TG3 on a un clone (!).

ANNEXE 2

RAPPELS STATISTIQUES

Test de Student : $t =$

A, B --> moyennes de A et de B
 V_A, V_B --> variances de A et de B
 n ---> effectif

Coefficient de variation : Ecart-type x 100 / moyenne

Ecart-standard (ES) : Ecart-type / \sqrt{n}

Intervalle de confiance : E.S. x t_{student}

Analyse de régression

1	2	3	4	5	6	7
A_i	B_i	$A_i - A$	$B_i - B$	$(A_i - A)^2$	$(A_i - A)(B_i - B)$	$B_{\text{théorique}}$
@moyenne($A_1..A_X$) @STD($A_1..A_X$)	@moyenne($B_1..B_X$) @STD($B_1..B_X$)			@somme(..)	@somme(..)	

droite de régression : $Y = aX + b$

a (pente) = somme de 6 / somme de 5

b (ordonnée à l'origine) = moyenne de B - a x moyenne de A

r (coefficient de régression) = $a \times \text{STD}_A / \text{STD}_B$, à comparer avec la table de Fisher

r^2 (coefficient de détermination : il indique la part de la variance du paramètre B explicable par la variance du paramètre A.

$B_{i \text{ Théor.}} = a \times A_i + b$